

Perspectivas de uso dos marcadores moleculares na bovinocultura de corte



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

*ISSN 0103-9865
Agosto, 2006*

Documentos 103

Perspectivas de uso dos marcadores moleculares na bovinocultura de corte

Ana Karina Dias Salman

Porto Velho, RO
2006

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Rondônia

BR 364 km 5,5, Caixa Postal 406, CEP 78900-970, Porto Velho, RO
Telefones: (69) 3901-2510, 3225-9387, Fax: (69) 3222-0409
www.cpafrro.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Flávio de França Souza*

Secretária: *Marly de Souza Medeiros*

Membros:

Abadio Hermes Vieira

André Rostand Ramalho

Luciana Gatto Brito

Michelliny de Matos Bentes Gama

Vânia Beatriz Vasconcelos de Oliveira

Normalização: *Tânia Maria Chaves Campêlo*

Editoração eletrônica: *Marly de Souza Medeiros*

Revisão gramatical: *Wilma Inês de França Araújo*

1ª edição

1ª impressão: 2006, tiragem: 100 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Rondônia

Salman, Ana Karina Dias.

Perspectivas de uso dos marcadores moleculares na bovinocultura de corte / por Ana Karina Dias Salman. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2006.

18 p. – (Documentos / Embrapa Rondônia. ISSN 0103-9865 ; 103).

1. Bovino de corte. 2. Marcador molecular. 3. Recurso genético animal. I. Embrapa Rondônia. II. Título. III. Série.

CDD 636.0821

© Embrapa - 2006

Autores

Ana Karina Dias Salman

Zootecnista, D.Sc., Embrapa Rondônia, Caixa Postal 406, CEP
78900-970, Porto Velho, RO.

E-mail: aksalman@cpafro.embrapa.br.

Sumário

| | |
|--|-----------|
| Introdução..... | 7 |
| O que são marcadores moleculares? | 8 |
| E como esses marcadores podem ser detectados? | 8 |
| Qual a importância desses marcadores na bovinocultura de corte? | 13 |
| Quais as perspectivas em relação ao uso dos marcadores moleculares no melhoramento de bovinos de corte? | 16 |
| Referências bibliográficas..... | 16 |

Perspectivas de uso dos marcadores moleculares na bovinocultura de corte

Ana Karina Dias Salman

Introdução

Apesar de terem sido encontrados mais de 20 focos de febre aftosa no Estado do Mato Grosso do Sul, em outubro de 2005, que acarretou no embargo total ou parcial da carne brasileira em 49 países, em janeiro de 2006 o volume das exportações brasileiras de carne bovina *in natura* foi 20% superior ao registrado em janeiro de 2004. Isso mostra que o Brasil conquistou uma posição de destaque no comércio mundial de carne bovina. Esse sucesso só foi possível de ser atingido graças aos inúmeros estudos desenvolvidos por pesquisadores em universidades e institutos de pesquisa com o apoio das associações de criadores visando aprimorar técnicas de manejo, sanidade, alimentação e melhoramento genético.

Muitas metas foram alcançadas desde que as pesquisas clássicas de genética quantitativa se iniciaram na década de setenta, visando aprimorar características quantitativas e qualitativas de interesse econômico. Apesar de todo o aspecto positivo, a pecuária nacional ainda está em busca de melhores índices em termos de produtividade e precocidade do rebanho. Enquanto nos Estados Unidos e na Europa o gado de corte está pronto para o abate com menos de dois anos de idade, no Brasil a média ainda é de 3,5 anos para que os animais atinjam o peso vivo ideal para abate, entre 240 kg e 330 kg. Isto porque 80% do rebanho brasileiro é composto por animais zebuínos (*Bos indicus*), notavelmente menos precoces que os de origem européia (*Bos taurus*).

A grande esperança para o melhoramento mais eficaz e mais rápido das raças zebuínas, em especial a Nelore, está aliada aos resultados obtidos com a genética molecular, a qual vem se estabelecendo cada vez mais nos centros de pesquisas. Com o advento das técnicas de biologia molecular, tornou-se possível um estudo mais preciso e detalhado a cerca da influência dos genes na manifestação de características de importância econômica. Até então, a maioria do progresso genético obtido para estas características era conseqüente exclusivamente da seleção baseada no fenótipo do animal ou na estimativa do valor genético derivado do fenótipo sem considerar os efeitos de cada gene ou do conjunto de genes envolvidos. Nesses casos, como a maioria das características selecionadas é de natureza quantitativa, testes de progênie e seleção em gerações avançadas são utilizados para minimizar os problemas com a seleção sem, contudo, diminuir ou evitar os efeitos da interação genótipo x ambiente. Uma maneira de evitar esse problema seria selecionar indivíduos com base nos seus genótipos, pois este independe do ambiente.

Mesmo assim, as taxas de ganho genético que foram e ainda estão sendo obtidas em programas de melhoramento demonstram claramente o poder do uso da genética quantitativa na seleção de animais geneticamente superiores. O desenvolvimento de técnicas moleculares surge como uma ferramenta a mais a ser utilizada na análise genética. Os estudos de genética quantitativa podem ser aprimorados através da inclusão de outras variáveis nos modelos matemáticos, como por exemplo, o genótipo do animal para características quantitativas (QTLs), principalmente àquelas de baixa herdabilidade ou de difícil mensuração. O rastreamento

de genótipos superiores pode ser auxiliado pela técnica de marcadores moleculares, já que as variações genéticas estão relacionadas com o genoma do indivíduo. Dentro de um programa de melhoramento genético, esses marcadores podem ser usados não só para seleção de indivíduos com características de interesse, mas também para caracterização da variabilidade genética entre indivíduos e, ou populações e em testes de paternidade.

O que são marcadores moleculares?

Entende-se por marcadores moleculares toda e qualquer característica herdável presente no DNA e que diferencia dois ou mais indivíduos. Estas marcas são alterações na sequência de bases ou de nucleotídeos na molécula de DNA denominadas de polimorfismos. Como 90% do genoma é composto por sequências não codificadoras, ou seja, que não carregam uma sequência de nucleotídeos que será transcrita em RNA funcional, a maioria dessas alterações são estáveis e não acarretam em mudanças fenotípicas, o que favorece a tolerância pelo indivíduo, a transmissão para aos descendentes e a fixação dentro de uma população. Com exceção dos gêmeos idênticos, cada indivíduo apresenta um padrão polimórfico único devido a grande variação no número e no tipo de variações estáveis ao longo da molécula de DNA, o que é conhecido por polimorfismo genético.

Os diferentes tipos de polimorfismos genéticos podem ser classificados de acordo com a localização dos mesmos no genoma, como por exemplo, os polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição ou RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), que ocorrem destruindo ou criando sítios com sequências reconhecidas por enzimas de restrição; os polimorfismos que alteram o tamanho ou o número de sequências repetidas em tandem ou VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats*) e os polimorfismos de nucleotídeos únicos ou SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) que podem ser observados tanto em regiões codificadoras como não codificadoras do genoma.

E como esses marcadores podem ser detectados?

A partir da descoberta da estrutura molecular dos ácidos nucleicos (DNA e RNA) e do melhor entendimento dos eventos que constituem o dogma central da biologia molecular (replicação, transcrição e tradução), vários métodos que simulam esses eventos *in vitro* foram desenvolvidos permitindo a análise do DNA visando identificar e caracterizar polimorfismos.

A técnica de PCR (*Polimerase Chain Reaction*, reação em cadeia da polimerase) surgiu na década de oitenta para a síntese *in vitro* do DNA, o que tornou possível amplificar uma região específica do DNA. Para iniciar a síntese de uma fita nova, a DNA polimerase precisa de um pequeno fragmento de DNA para iniciar a síntese (*primer*), de um DNA molde e de precursores de síntese de DNA, chamados dNTPs (desoxinucleotídeos tri-fostato ou dATP, dTTP, dCTP e TGTP). Adicionando-se todos esses “ingredientes” num tubo, a reação é inicialmente aquecida a 94°C-96°C, para que as fitas duplas de DNA se desnaturem. Em seguida, a temperatura é reduzida (50°C-68°C) para permitir o pareamento dos *primers* em cada uma das duas fitas do DNA molde (um *primer* em cada direção, já que as fitas são antiparalelas). Por fim, a temperatura é elevada para 72°C, para que a DNA polimerase possa sintetizar as novas fitas simples de DNA a partir de cada um dos dois *primers*, duplicando, assim, a sequência alvo escolhida. Ao se repetir o ciclo, os *primers* encontram dois alvos cada um, a partir do primeiro alvo replicado: um no DNA original e outro na cópia recém sintetizada, gerando, por sua vez, ao fim do novo ciclo, quatro cópias do alvo. A repetição desse processo leva ao aumento exponencial do número de cópias do DNA alvo. Nas Figuras 1 e 2 estão esquematizados como ocorrem os ciclos da PCR. Cada ciclo envolve três etapas: desnaturação, associação dos *primers* e extensão.

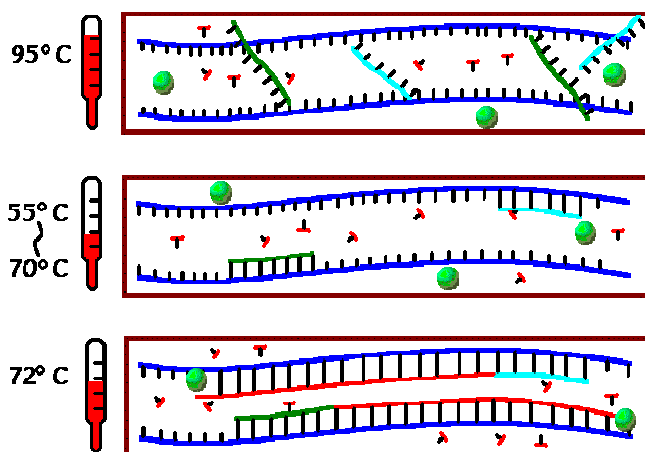


Fig. 1. Um ciclo da PCR consiste de três etapas: desnaturação a 94°C-96°C, associação dos *primers* 55°C-68°C e extensão a 72°C.
Fonte: <http://www.ib.usp.br/evolucao/QTL/marcadores.html>.

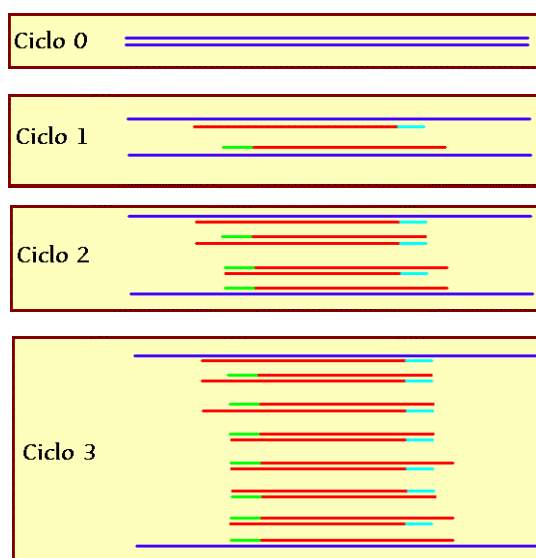


Fig. 2. Aumento exponencial da região de interesse na molécula de DNA nos primeiros ciclos da PCR.
Fonte: <http://www.ib.usp.br/evolucao/QTL/marcadores.html>.

Após a PCR, os produtos da reação podem ser analisados por eletroforese, que consiste na migração dos fragmentos de DNA submetidos a um campo elétrico dentro de um meio gelatinoso e poroso (gel de agarose). Como o DNA apresenta carga negativa (por causa dos grupos fosfato na extremidade da molécula) o mesmo migra do pólo negativo para o positivo, sendo que quanto menor o tamanho do fragmento de DNA maior é a velocidade de migração ao longo do gel (Fig. 3). A visualização dos fragmentos de DNA no gel é feita através da marcação das amostras com brometo de etídio, que é uma substância capaz de se intercalar entre as bases da molécula de DNA e que sob luz ultravioleta emite uma coloração alaranjada.

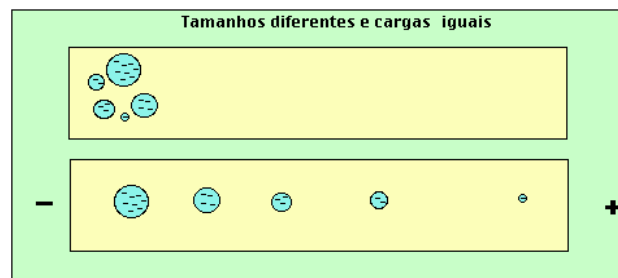


Fig. 3. Representação esquemática de fragmentos de DNA com diferentes tamanhos migrando do pólo negativo para o positivo ao longo de um gel de agarose.

Fonte: <http://www.ib.usp.br/evolucao/OTL/marcadores.html>.

Na Fig. 4 pode-se visualizar o esquema de um gel de agarose contendo amostras de fragmentos de DNA amplificados por PCR e comparados a um padrão de peso molecular que é uma amostra de DNA com fragmentos de tamanhos conhecidos.

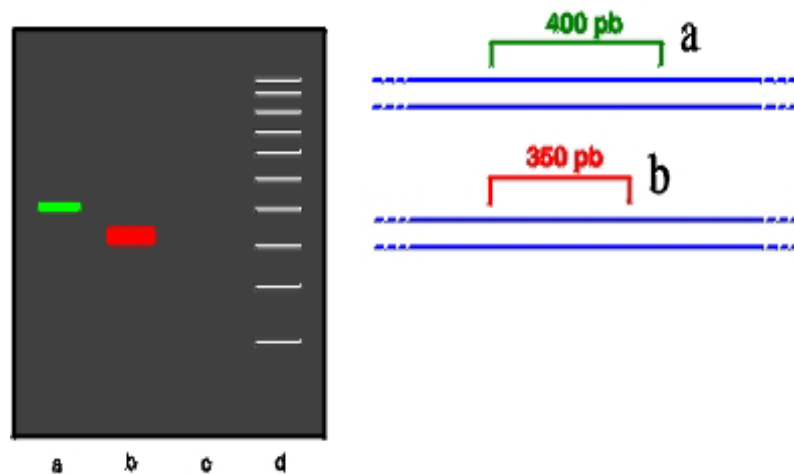
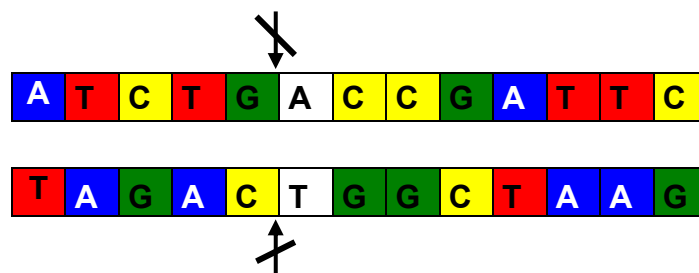


Fig. 4. Esquema de um gel de agarose contendo amostras de dois fragmentos de DNA (400 pb e 350 pb) amplificados por PCR e comparados a um padrão de peso molecular (PM) de fragmentos de 100 pares de base (pb).

Fonte: http://planeta.terra.com.br/educacao/biolmol/aula7_PCR-RAPD-aplicar.htm.

Para a detecção de RFLPs, a região contendo o polimorfismo é amplificada por PCR e depois digerida com endonucleases de restrição, que são enzimas que reconhecem e “cortam” o DNA dentro de uma sequência específica de nucleotídeos (sítios de restrição). Logo abaixo está esquematizado um exemplo de RFLP em que uma mutação responsável pela troca de uma adenina (A) por guanina (G) cria um sítio para a enzima *HaeIII*, que corta o DNA no sítio correspondente à sequência GGCC. Marcadores RFLP são tipicamente co-dominantes, em que os genótipos heterozigoto e homozigoto podem ser distinguidos. Na Fig. 5 está a foto do gel mostrando os três genótipos possíveis para este polimorfismo.

DNA Normal:



DNA com mutação:

Mutação substitui A por G (e T por C na outra fita)
Hae III reconhece a sequência e corta o DNA

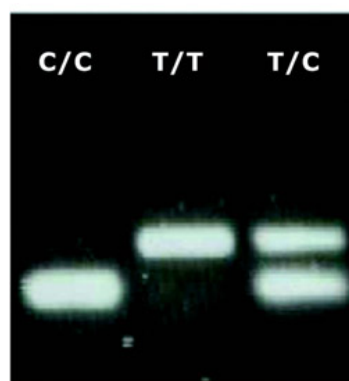
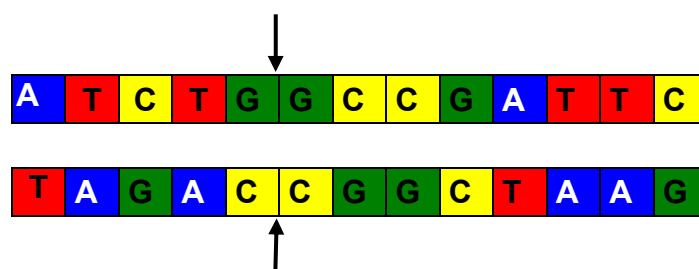


Fig. 5. Exemplo de análise de um polimorfismo por RFLP, onde a presença do nucleotídeo C cria um sítio de restrição para a enzima *Hae*III. Gel de agarose contendo na coluna 1 um indivíduo homozigoto CC, na coluna 2 um homozigoto TT e na coluna 3 um heterozigoto TC (apenas o alelo C é digerido).

Fonte: Guimarães e Costa (2002).

Os microsatélites ou VNTR do tipo STR (*Short Tandem Repeats*, repetições pequenas em tandem) receberam essa denominação porque quando se fazia análise de DNA por ultracentrifugação em gradiente de Cloreto de Césio (que separa o DNA por sua densidade) apareciam bandas que ficavam ao lado da banda principal. A essas bandas foi atribuído o nome de DNA satélite, pois pareciam pequenos satélites ao lado de um planeta. Mais tarde esse DNA foi caracterizado como sendo regiões de DNA repetitivo. Depois se descobriu que as repetições podiam ser longas (satélites), curtas (minissatélites) ou muito curtas (microsatélites). Logo abaixo está esquematizada a estrutura do microsatélite CA com exemplos das prováveis variações no número de repetições dentro de uma mesma região cromossômica:

....CACACACACACACA.....
CACACACACACACACA.....
CACACACACACACACACA.....
CACACACACACACACACACA.....
CACACACACACACACACACA.....

Para detecção desses polimorfismos pode-se realizar PCR com iniciadores (*primers*) que flanqueiam essas regiões no DNA. Como os alelos de um microssatélite geralmente apresentam números distintos de repetições e, conseqüentemente, tamanhos diferentes, na separação dos mesmos por eletroforese é possível detectar os genótipos da mesma forma que na técnica do RFLP, só que no caso de polimorfismo microssatélite os indivíduos homozigotos não são distinguidos dos heterozigotos, por esse motivo é considerado um marcador dominante.

Na Fig. 6 está representado um exemplo de polimorfismo microssatélite amplificado por PCR e visualizados em gel de agarose e como o mesmo é utilizado em teste de paternidade. Durante o processo de formação da célula-ovo (fecundação) que irá dar origem a um embrião, o conjunto de cromossomos do novo indivíduo será formado pela fusão do material genético do pai e da mãe. Logo, quando se considera os cromossomos homólogos de um indivíduo, sempre um é de origem paterna e o outro de origem materna. No exemplo mostrado na Fig. 6, apenas um dos indivíduos (Fo.1) teve o resultado positivo no teste de paternidade porque apresentou um dos alelos de origem paterna, o outro suposto filho (Fo. 2) apresentou apenas o alelo de origem materna e não o de origem paterna, sendo nesse caso a hipótese de paternidade rejeitada.

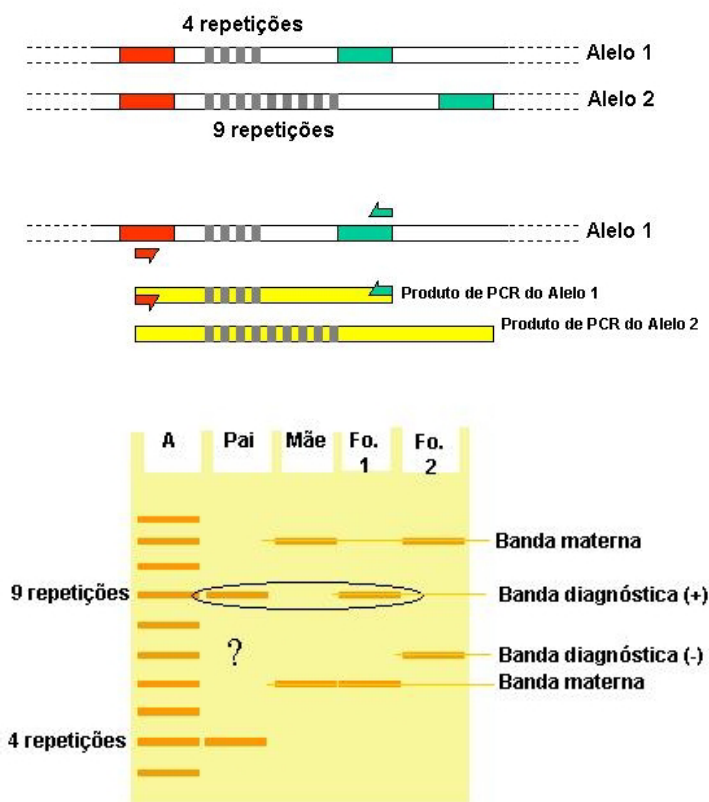


Fig. 6. Exemplo do uso de polimorfismo microssatélite em teste de paternidade.
 Fonte: http://planeta.terra.com.br/educacao/biolmol/aula7_PCR-RAPD-aplicar.htm.

Uma outra maneira de se estudar polimorfismos de DNA é através do seqüenciamento de regiões do DNA com posterior alinhamento e análise comparativa das seqüências em *softwares* específicos. Isto torna possível a detecção de polimorfismos pontuais ou SNPs que podem ocorrer em regiões codificadoras ou não codificadoras do genoma. Em regiões codificadoras, quando resultam em uma substituição de aminoácido na seqüência protéica, são denominados polimorfismos não sinônimos, podendo a substituição ser conservativa ou não conservativa em função das características dos aminoácidos envolvidos na troca. Nesses casos, pode haver modificações estruturais e funcionais na proteína. Embora SNPs sinônimos (ou silenciosos) não alterem a seqüência protéica, eles podem modificar a estrutura e a estabilidade do RNA mensageiro e, conseqüentemente, afetar a quantidade de proteína produzida. Além disso, SNPs podem alterar o processamento (*splicing*) alternativo de RNAm; o padrão de expressão de genes através de alterações em seqüências promotoras; os códons de iniciação e, ou de terminação da tradução e a poliadenilação da molécula de RNA mensageiro (Guimarães e Costa, 2002).

Na Fig. 7 está exemplificado como é feita a comparação de seqüências correspondentes ao mesmo segmento do DNA proveniente de três indivíduos diferentes, mostrando um SNP não sinônimo A/G, que causa a substituição de glutamina (GLU) por arginina (ARG) na seqüência protéica.

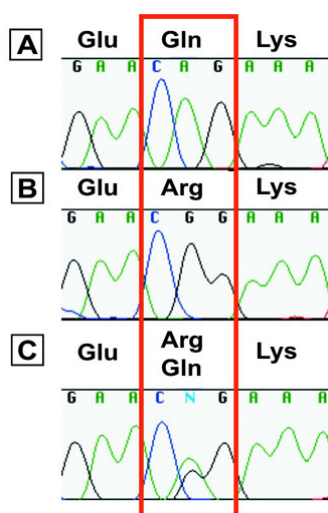


Fig. 7. Alinhamento de seqüências correspondentes ao mesmo segmento genômico de três indivíduos, mostrando um SNP não sinônimo A/G, que causa a substituição de glutamina por arginina na seqüência protéica. (A = Indivíduo homozigoto AA; B = Indivíduo homozigoto GG e C = Indivíduo heterozigoto AG).
Fonte: Guimarães e Costa, 2002.

As substituições mais freqüentes que ocorrem no DNA são as que envolvem bases nitrogenadas de mesma característica estrutural, ou seja, trocas entre duas purinas (A/G ou G/A) ou duas pirimidinas (C/T ou T/C) e são denominadas transições. As transversões são substituições de uma purina por uma pirimidina ou vice-versa. Essas alterações, algumas vezes, têm origem em erros de incorporação de bases durante a replicação do DNA; em outros casos são causadas por lesões no DNA por agentes ambientais. Caso essas mutações em células germinativas sejam transmitidas às gerações seguintes e se fixem na população em uma freqüência mínima de 1% passam a ser denominadas de polimorfismos (Kwok e Gu, 1999).

Qual a importância desses marcadores na bovinocultura de corte?

Os programas de melhoramento genético de raças bovinas utilizadas para produção de carne podem se beneficiar do uso de marcadores moleculares na sexagem de embriões, em testes de paternidade e, principalmente, na seleção assistida por marcadores. Nesse último caso, a seleção consiste em transferir genes ou conjunto de genes desejáveis de maneira mais rápida e eficiente utilizando menor número de animais e gerações, facilitando assim o estudo de QTLs. A

introdução de genótipos superiores, bem como a detecção de doenças genéticas, pode aumentar o ganho genético anual e tornar mais eficiente a produção de bovinos de corte.

A seleção assistida por genes (SAG) ou por marcadores (SAM) está sendo considerada como uma das grandes promessas para aumentar a eficiência da seleção nos programas de melhoramento animal. A SAG depende do conhecimento de genes que tem efeito direto no desenvolvimento de características de interesse econômico e a SAM depende de regiões do DNA fisicamente ligadas aos genes de interesse durante o processo de segregação gênica (Ledur & Schimidt, 2003). Uma das limitações ao uso dessa nova tecnologia está relacionada com a falta de um mapa genético específico de zebuínos e que contenha a localização de regiões específicas ao longo dos cromossomos. Uma vez que tais regiões tenham sido devidamente identificadas, marcadores adicionais podem ser utilizados para identificação de *loci* de interesse. Nos Estados Unidos e na Europa já foram realizados projetos para o mapeamento do genoma do *Bos taurus* (gado europeu), mas aqui no Brasil há uma expectativa para finalização do projeto Genoma Funcional do Boi lançado em maio de 2003 e que pretende identificar os genes bovinos relacionados ao crescimento, qualidade da carne, resistência a doenças e eficiência reprodutiva.

De acordo com Ledur & Schimidt (2003) a aplicação da técnica de seleção assistida por genes ou por marcadores nos programas de melhoramento genético depende do desenvolvimento e da ação conjunta de quatro áreas distintas: 1. Genética molecular para identificação e mapeamento de genes, bem como de polimorfismos no DNA; 2. Identificação QTL que consiste na associação de genes ou de marcadores genéticos com características quantitativas de interesse econômico; 3. Avaliação genética para integração de dados fenotípicos e genotípicos em modelos matemáticos para estimar o valor genético individual na população elite; 4. Seleção assistida por marcadores para o desenvolvimento de estratégias de melhoramento e de programas de acasalamento.

Através do mapeamento do genoma do *Bos taurus* e de estudos sobre a fisiologia do crescimento foi possível a identificação de alguns genes que estão envolvidos na manifestação de características produtivas e que são importantes do ponto de vista de melhoramento genético de bovinos de corte, dentre os quais podemos citar como exemplos, o gene da miostatina, do hormônio do crescimento (GH) e o da leptina.

A associação de mutações no gene da miostatina com a musculatura dupla (hipertrofia muscular) de bovinos da raça Belgian Blue foi descoberta em 1997 por Grobet e colaboradores. Estes autores consideraram os resultados de estudos de análise de ligação entre *loci* marcadores no cromossomo 2 bovino e o *locus* da hipertrofia muscular (*mh*). A identificação do *locus mh* no cromossomo 2 bovino foi feita por mapeamento comparativo utilizando sondas de fragmentos do cromossomo 2 humano, onde o *locus* do gene da miostatina já havia sido localizado. Além disso, também foram considerados experimentos realizados com camundongos nocauteados para o gene da miostatina e que apresentavam grande desenvolvimento muscular. O seqüenciamento desse gene, isolado de bovinos com hipertrofia muscular, revelou a deleção de 11 nucleotídeos. Tal deleção acarreta no aparecimento de um códon de parada prematuro no RNAm e, conseqüentemente, na síntese de uma proteína sem função biológica. Atualmente, seis mutações no gene da miostatina associadas com perda função (Tabela 1) e outras quatro silenciosas já foram identificadas em várias raças de bovinos de corte (Grobet et al., 1998).

Várias mutações no gene do hormônio do crescimento bovinos (bGH) estão descritos na literatura. A mais estudada em relação aos seus efeitos sobre as características de produção é uma transversoão de C por G no exon 5 (posição 2141) responsável pela substituição de leucina (L) por valina (V) na posição 127 da cadeia polipeptídica (Lucy et al., 1993). Switonski (2002) revisou vários estudos e verificou que na maioria das vezes os animais com genótipo VV (dois alelos mutantes do gene bGH) mostraram menor taxa de crescimento, menor ganho de peso diário e peso corporal, menor produção de carne e menor peso de carcaça. Outro estudo indicou que animais LV apresentaram maiores valores genéticos para ganho de peso diário que

os dos genótipos LL e VV (Schlee et al., 1994). Por outro lado, Zwierzcchowski et al. (2001) verificou que touros do genótipo VV apresentaram maior ganho de peso diário e, conseqüentemente, eram mais pesados que os dos outros genótipos. Já Di Stasio et al. (2002) não verificaram associação entre polimorfismo no bGH e características de produção de carne em bovinos da raça Piemontesa. Estes resultados contraditórios provam que não é fácil avaliar os efeitos de um determinado polimorfismo sobre as características de carcaça e de crescimento. Por esse motivo, o polimorfismo V/L no gene bGH ainda não pode ser utilizado em programas de melhoramento genético.

Tabela 1. Mutações com perda de função no gene da miostatina em diferentes raças bovinas.

| Tipo de mutação (posição do nucleotídeo após o códon de início da transcrição) | Alteração na proteína | Raças |
|---|---|---|
| Deleção de 11 nucleotídeos (821) | Proteína truncada (códon de parada prematuro) | Belgian Blue, Blonde d'Âquitaine, Limousine, Austurian, Rubea Gallega |
| Transição de G por A (938) | Substituição de CYS por TYR | Gascone, Piedmontese |
| Deleção de 7 pares de base e inserção de 10 pares de bases (419) | Proteína truncada (códon de parada prematuro) | Maine-Anjou |
| Transição de C por T (610) | Proteína truncada (códon de parada prematuro) | Charolais, Limousine |
| Transição de C por T (676) | Proteína truncada (códon de parada prematuro) | Maine-Anjou |
| Transição de C por T (874) | Proteína truncada (códon de parada prematuro) | Marchigiana |

Fonte: Switonski (2002).

A leptina é um hormônio produzido pelo tecido adiposo e que tem ação sobre os mecanismos que regulam a ingestão, o metabolismo energético, a reprodução e até o sistema imune. O primeiro polimorfismo no gene da leptina foi descoberto por Pomp et al. (1997) através da digestão de um fragmento de 1820 pb com a enzima de restrição *Sau3AI*. Os efeitos desse polimorfismo sobre características de produção de gado de corte foram avaliados por Zwierzcchowski et al. (2001), os quais verificaram uma associação entre esse polimorfismo e o consumo e a conversão alimentar. O efeito dos genótipos foi variável. Os touros de genótipo AA (alelo A representado por três fragmentos de restrição) apresentaram maior consumo; os do genótipo AB (alelo B representado por quatro fragmentos de restrição) apresentaram alguns cortes comerciais com maior peso.

Outros polimorfismos no gene da leptina bovino foram detectados (Stone et al., 1996; Lien et al., 1997; Wilkins & Davey, 1997; Fitzsimmons et al., 1998; Konfortov et al., 1999; Haegeman et al., 2000; Lagonigro et al., 2003; Salman, 2003) e associados ao consumo de ração (Lagonigro et al., 2003), à área-de-olho-de-lombo (Salman, 2003), à deposição de gordura na carcaça (Fitzsimmons et al., 1998; Buchanan et al., 2002) de bovinos de corte e com características de balanço energético, produção de leite, peso vivo e fertilidade em gado leiteiro (Liefers et al., 2002). Tessanne et al. (1999) investigaram a relação entre os genótipos para dois microsátélites polimórficos (Wilkins & Davey, 1997 e Stone et al., 1996) e dois RFLPs (Lien et al., 1997) com características de carcaça e só encontraram efeito significativo ($P < 0,02$) entre o microsátélite polimórfico descoberto por Wilkins & Davey (1997) e a área de olho-de-lombo em um grupo de 137 bovinos da raça Angus. Os autores justificaram esta falta de significância com o fato do estudo ter sido conduzido em um grupo pequeno (139 bovinos) e composto por animais pertencentes a uma única raça pura (Angus).

Existem outros exemplos de genes que já foram identificados e mapeados no genoma bovino e que são importantes na manifestação de características produtivas em bovinos de corte, sendo que alguns deles já tiveram suas variantes polimórficas identificadas e associadas com características de carcaça e, ou de crescimento.

Dois polimorfismos no gene do fator I de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) foram avaliados quanto aos seus efeitos sobre as características produtivas de bovinos de corte. Um microsatélite (CA)_n polimórfico na região promotora do gene do IGF-I foi associado com peso ao nascimento e com o ganho de peso no primeiro ano de vida de bovinos da raça Hereford (Moody et al, 1996). Ge et al. (2001) não observaram esse polimorfismo em uma população de bovinos da raça Angus, porém, identificaram outro polimorfismo na região promotora que consistia de uma transição de T → C, sendo o genótipo BB (C nos dois alelos) associado ao maior ganho de peso nos vinte primeiros dias após o desmame.

Um microsatélite (TG)_n polimórfico na região promotora do gene do receptor do hormônio do crescimento (RGH) foi identificado em animais Angus por Hale et al. (2000). O alelo mais curto desse microsatélite (com onze repetições TG) é mais freqüente em animais *Bos indicus* enquanto o alelo mais longo (16 a 20 repetições TG) é mais comum em animais *Bos taurus*, sendo que novinhos Angus com o genótipo homozigoto (longo/longo) apresentaram significativamente maior peso ao desmame e de carcaça.

Podemos citar outros genes candidatos a QTLs em bovinos de corte que já foram mapeados mas foram pouco estudados para identificação de polimorfismos, como o do fator de transcrição específico da pituitária (PIT1), que controla a expressão do GH; o do fator 1 dos pré-adipócitos (PREF-1), o qual pode estar relacionado com a deposição de gordura intramuscular (marmoreio); os genes que se expressam exclusivamente nos músculos esqueléticos, como o do fator 1 de determinação miogênica (MYOD1), o da miogenina (MYOG), o do canal de cloreto do músculo esquelético (CLNC1), o da calpaína 3 (CANP3), o do fator 5 miogênico (MYF5) e o do fator 6 miogênico (MYF6) (Switonski, 2002).

Quais as perspectivas em relação ao uso dos marcadores moleculares no melhoramento de bovinos de corte?

Marcadores moleculares ligados às características quantitativas não irão de forma alguma substituir os métodos tradicionais de seleção, mas poderão auxiliar geneticistas quantitativos através do fornecimento de informações referentes ao genótipo, o que aumentará o ganho genético e diminuirá o intervalo entre gerações quando genótipos superiores forem detectados. Porém, a implantação desses conhecimentos em programas de melhoramento genético necessita de estudos minuciosos desenvolvidos por vários autores em diferentes rebanhos para demonstrar e confirmar os efeitos dos polimorfismos de DNA sobre as características produtivas. Espera-se que, num futuro próximo, os conhecimentos sobre o controle genético de características de interesse econômico, gerados por estudos de genética molecular possam auxiliar na prática de desenvolvimento de estratégias de melhoramento e seleção. Esse desafio está apenas começando.

Referências bibliográficas

BUCHANAN, F. C.; FITZSIMMONS, C. J.; VAN KESSEL, A. G.; THUE, T. D.; WILKELMAN-SIM, D. C.; SCHMUTZ, S. M. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. **Genetic Selection Evolution**, v. 34, p.105-116, 2002.

DI STASIO, L.; SARATORE, S.; ALBERTA, A. Lack of association of GH and Pou I f1 gene variants with meat production traits in Piemontese cattle. **Animal Genetics**, v. 33, p.61-64, 2002.

FITZSIMMONS, C. J.; SCHMUTZ, S. M.; BERGEN, R. D.; MCKINNON, J. J. A potential association between the BM 1500 microsatellite and fat deposition in beef cattle. **Mammalian Genome**, v. 9, p. 432-434, 1998.

GE, W.; DAVIS, M. E.; HINES, H. C.; IRVIN, K. M.; SIMMEN, R. C. Association of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 1757-1762, 2001.

GROBET, L.; PONCELET, D.; ROYO, L. J.; BROUNERS, B.; PIROTTIN, D.; MICHAUX, C.; MÉNISSIER, F.; ZANOTTI, M.; DUNNER, S. I.; GEORGES, M. Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double-muscling in cattle. **Mammalian Genome**, v. 9, p. 210-213, 1998.

GROBET, L.; ROYO, L. J.; PONCELET, D.; PIROTTIN, D.; BROUNERS, B.; RIQUET, J.; SCHOEBERLEIN, A.; DUNNER, S.; MÉNISSIER, F.; MASSABANDA, J.; FRIES, R.; HANSET, R.; GEORGES, M. A deletion in the myostatin gene causes double-muscling in cattle. **Nature Genetics**, v. 17, p. 71-74, 1997.

GUIMARÃES, P. E. M.; COSTA, M. C. R. SNPs: Sutis diferenças de um código. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 26, p. 24-27, 2002.

HAEGEMAN, A.; VAN ZEVEEREN, A.; PEELMAN, L. J. New mutation in exon 2 of the bovine leptin gene. **Animal Genetics**, v. 31, p. 70, 2000.

HALE, C. S.; HERRING, W. O.; SHIBUYA, H.; LUCY, M. C.; LUBAHN, D.B.; KEISLER, D.H.; JOHNSON, G.S. Decreased growth in Angus steers with short TG-microsatellite allele in the PI promoter of the growth hormone receptor gene. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 2099-2104, 2000.

KONFORTOV, B. A.; LICENCE, V. E.; MILLER, J. R. Re-sequencing of DNA from a diverse panel of cattle reveals a high level of polymorphism in both intron and exon. **Mammalian Genome**, v. 10, p. 142-145, 1999.

KWOK, P. Y.; GU, Z. Single nucleotide polymorphism libraries: why and how are we building them? **Molecular Medicine Today**, v. 12, p. 538-543, 1999.

LAGONIGRO, R.; WIENER, P.; PILLA, F.; WOOLLIAMS, J.A.; WILLIAMS, J.L. A new mutation in the coding region of the bovine leptin gene associated with feed intake. **Animal Genetics**, v. 34, p. 371-374, 2003.

LEDUR, M. C.; SCHIMIDT, G. S. Genética molecular: aplicação de tecnologias moleculares no melhoramento genético de aves Disponível em: <<http://www.bichoonline.com.br/artigos/embrapave0007.htm>>. Acesso em: 15 out. 2006.

LIEFERS, S. C.; PAS, M. F. W. te; VEERKAMP, R. F.; VAN DER LENDE, T. Association between leptin gene polymorphisms and production, live weight, energy balance, feed intake, and fertility in Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 633-1638, 2002.

LIEN, S.; SUNDVOLD, H.; KLUNGLAND, H.; VAGE, D. I. Two novel polymorphisms in the bovine obesity gene (OBS). **Animal Genetics**, v. 28, p. 238-246, 1997.

LUCY, M. C.; HAUSER, S. D.; EPPARD, P. J.; KRIVI, G. G.; CLARK, J. H.; BAUMAN, D. E.; COLLIER, R.J. Variants of somatotropin in cattle: gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 10, p. 325-333, 1993.

MOODY, D. E.; POMP, D.; NEWMAN, S.; MACNEIL, M. D. Characterization of DNA polymorphism in three populations of Hereford cattle and their associations with growth and maternal EPD in line I Herefords. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 1784-1793, 1996.

POMP, D.; ZOU, T.; CLUTTER, A. C.; BARENDEN, W. Mapping of leptin to bovine chromosome 4 by linkage analysis of PCR-based polymorphism. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 427, 1997.

SALMAN, A. K. D. **Polimorfismo e expressão gênica da lepina em bovinos superprecoces**. 2003. 49 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

SCHLEE P.; GRAM L. R.; ROTTMAN, O.; PIRCHNER, F. Influence of growth-hormone genotypes on breeding values of Simmental bulls. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 111, p. 253-256, 1994.

STONE, R. T.; KAPPES, S. M.; BEATTLE, C. W. The bovine homologue of obese gene maps to chromosome 4. **Mammalian Genome**, v. 7, p. 399-400, 1996.

SWITONSKY, M. Molecular Genetic in beef cattle breeding: a review. **Animal Science Papers and Reports**, v. 20, sup.1, p. 7-18, 2002.

TESSANNE, K.; HINES, H. C.; DAVIS, M. E. **Relationships of polymorphisms in the bovine leptin gene with differences in beef carcass traits**. Wooster: Ohio State University, 1999. n.p. (Ohio Cooperative Extension Service. Bulletin Research and Reviews: Beef and Sheep. Special Circular, 170).

WILKINS, R. J.; DAVEY, H. W. A polymorphic microsatellite in the bovine leptin gene. **Animal Genetics**, v. 28, p. 376, 1997.

ZWIERZCHOWSKI, L.; OPRZADEK, J.; DYMICKI E.; DZIERZBICKI, P. An association of growth hormone κ -casein, β -lactoglobulin, leptin and *Pit-1* loci polymorphism with growth rate and carcass traits in beef cattle. **Animal Science Papers and Reports**, v.19, p. 65-78, 2001.

Embrapa

Rondônia

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO